УДК 662.73.012

ВЛИЯНИЕ МЕХАНОХИМИЧЕСКОЙ АКТИВАЦИИ НА СОСТАВ И СВОЙСТВА ГУМИНОВЫХ КИСЛОТ ТОРФОВ

А.А. Иванов, Н.В. Юдина, О.И. Ломовский*

Институт химии нефти СО РАН, г. Томск
E-mail: ivanov@ipc.tsc.ru
*Институт химии твердого тела и механохимии СО РАН, г. Новосибирск

Показана возможность изменения выходов, состава и свойств гуминовых кислот верхового и низинного торфов после механоактивации в присутствии твердой щелочи и целлюлозолитического фермента.

Основными носителями биологической активности в торфе являются гуминовые кислоты (ГК) [1, 2]. Сами по себе, являясь высокомолекулярными полимерными соединениями, они нерастворимы в воде и малоподвижны. Для их использования в растениеводстве и животноводстве необходимо максимально перевести гуминовые препараты в растворимое состояние, уменьшить молекулярную массу, повысить реакционную активность, т. е. частично деструктировать, что можно достичь различными физическими и химическими методами воздействия на органическое вещество, такими как механохимическая активация [3, 4]. Механохимическая активация (МА) может использоваться для получения из торфа органических механокомпозитов – «частицы торфа – частицы специально подобранного реагента», из которых целевые биологически активные соединения могут извлекаться селективно с предельным выходом, который обычно достигается путем длительной непрерывной экстракции. Наиболее эффективным представляется непосредственное использование продуктов механохимической обработки в качестве готовой формы биологически активного препарата. Присутствие в продукте водорастворимых форм гуминовых веществ является необходимым условием успешной реализации такого подхода.

Целью данной работы являлось исследование химических превращений ГК торфов при механохимической активации.

Объекты и методы исследований

В качестве объектов использовали верховой торф месторождения «Темное» Томской области, отнесенный к моховой группе с низкой степенью разложения (5 %) и низинный древесный торф месторождения «Таганское» Томской области с высокой степенью разложения (30 %).

МА проводилась в проточной виброцентробежной мельнице ВЦМ-10 (разработка Института химии твердого тела и механохимии СО РАН, г. Новосибирск). В качестве воздействующих тел применяли стальные шары диаметром 10 мм. Ускорение шаров составляло 180 м/с^2. Время пребывания обрабатываемых веществ в рабочей зоне – 2 мин. Температура проведения экспериментов – 20 °С.

Обработка торфов проведена, преимущественно, с добавками 3 % NaOH и 0,5 % целлюлозолитического фермента – целловиридина (ЦВ).

Выделение органических соединений из образцов проводили по классической комплексной схеме для растительного сырья [5]. Из исходных и обработанных образцов последовательно методом экстракции выделяли водорастворимые компоненты (ВР): полисахариды (ПС) и полифенолы (ПФ) (t=95 °С), битумы (CH_3Cl) и ГК (0,1 н NaOH и 10 % HCl).

При исследовании свойств торфов использовали стандартные методики определения ботанического состава, степени разложения [6].

С помощью физико-химических методов анализа изучен состав и свойств выделенных фракций ГК торфов.

С помощью гель-хроматографического разделения на сефадексе G-75 с использованием 0,1 н NaOH в качестве растворителя и элюирующего раствора было получено молекулярно-массовое распределение ГК торфов [7]. Оптическую плотность для определения степени элюирования регистрировали на спектрофотометре SPEKOL-21 при длине волны 465 нм, при которой не проявляются примеси неспецифических соединений.

С целью получения информации о содержании структурных фрагментов в отдельных фракциях торфов был использован метод ЯМР ^{13}С-спектроскопии. Количественная спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР) дает уникальную информацию о содержании структурных фрагментов исследуемых соединений, недоступную другим химическим и физическим методам исследования [8]. Регистрацию спектров осуществляли на радиоспектрометре ЯМР фирмы Bruker (Германия), имеющем рабочую частоту по углероду 125 МГц, с использованием методики Фурье-преобразования с накоплением. Время накопления изменялось от нескольких часов до суток. Исследуемые образцы ГК растворяли в 0,5 н дейтерированной щелочи. Систематическая погрешность количественного ЯМР анализа является незначимой в соответствии с многочисленными литературными данными по анализу индивидуальных органических веществ. Для исключения ядерного эффекта Оверхаузера за-

пись спектров ЯМР ^{13}C проводилась с подавлением протонов в режиме INVGATE. В качестве внешнего стандарта использовали ТМС. Спектры снимали с задержкой 4 с между импульсами. Обработку спектров проводили с использованием программы WINNMR фирмы Bruker. Кроме регистрации спектров ЯМР осуществляли запись интеграла, что позволило определить относительное содержание магнитных ядер углерода, принадлежащих к той или иной группе атомов.

Парамагнетизм является неотъемлемым свойством ГК и обусловлен синергетическим эффектом взаимодействия ароматических систем полисопряжения и водородных связей функциональных групп. Спектры ЭПР регистрировали на Bruker EMX EPR-спектрометре при температуре 20 °С. В качестве стандарта использовали $CuCl_2 \cdot H_2O$ – $2{,}0 \cdot 10^{18}$ спинов. Высокочастотная модуляция магнитного поля составляла 100 кГц с амплитудой в 1 Гс, микроволновая мощность – 2,03 мВт.

Реакционная активность фракций ГК определялась вольтамперометрическим методом катодного восстановления кислорода [9]. Методика эксперимента заключалась в съемке вольтамперограмм на серийном полярографе ПУ-1 в щелочном растворе при pH 10...12 при следующих условиях: скорость развертки 20 мВ/с, диапазон потенциалов 0...2,0 В, режим постояннотоковой или дифференциальной импульсной вольтамперометрии, температура 20 °С. Снималась вольтамперограмма фонового электролита на лабораторном компенсационном двухкоординатном приборе типа ЛКД-4 для получения начального предельного тока кислорода, соответствующего его растворимости в данном растворителе в отсутствие препаратов. Затем инертным газом, подаваемым под давлением, электролит продувался для удаления кислорода из раствора и записывалась вольтамперограмма фонового электролита в отсутствие кислорода в растворе. Далее в обновленную порцию электролита добавлялся раствор с исследуемым гуминовым препаратом в известной концентрации и фиксировалось пропорциональное изменение тока электровосстановления кислорода. Метод катодной вольтамперометрии позволяет определить концентрации веществ в диапазоне $10^{-6}...10^{-7}$ мг/л. Ошибка измерений не превышала 10 %.

Результаты и обсуждение

Механическое воздействие в присутствии твердой щелочи и целлюлозолитического фермента приводит к изменению выхода и качественных характеристик основных компонентов торфов (табл. 1). Содержание ГК в торфе увеличивается при переходе от моховых к древесным видам и от верхового к низинному типам торфа [10]. Кроме того, известно, что МА торфа влияет на выход ГК, который зависит от типа устройства, среды обработки и вида торфа [11]. Прирост выхода ГК возможен за счет деструкции трудногидролизуемых веществ и уменьшения молекулярной массы компонентов. МА верхового торфа приводит во всех случаях к повышению выхода ГК (табл. 1). При обработке низинного торфа в щелочной среде происходит резкое снижение количества ГК за счет образования водорастворимых гуматов. Максимальный выход ГК торфов наблюдался при обработке с ферментом.

Анализ результатов определения группового состава торфов также показал, что при МА изменяется соотношение выделенных ВР фракций – ПС и ПФ (табл. 1). Сравнение результатов, полученных в аналогичных условиях для разных типов торфов показало, что эффективность выделения данных компонентов из механоактивированного верхового торфа выше, чем из низинного. Механическое воздействие в присутствие реагентов приводит к снижению выходов битумов торфов.

Таблица 1. *Изменение выходов основных компонентов торфов после МА*

Условия обработки	Содержание на органическое вещество, мас. %					
	Битумы	ГК	ВР		ΣВР	ΣФК+ЛГ+ТГ+Л*
			ПС	ПФ		
Верховой торф						
Исходный торф	2,8	22,4	0,2	1,1	1,3	72,2
Без добавок	1,9	28,1	2,4	3,4	5,8	58,4
0,5 % ЦВ	1,9	29,9	3,0	6,1	9,1	50,0
3 % NaOH	1,1	25,6	4,4	2,7	7,1	59,1
Низинный торф						
Исходный торф	0,8	28,3	0,1	0,3	0,4	70,1
Без добавок	0,6	35,7	0,4	1,7	2,1	59,5
0,5 % ЦВ	0,6	37,1	1,0	1,5	2,5	57,3
3 % NaOH	0,5	21,5	0,7	8,1	8,8	60,4

** ΣФК+ЛГ+ТГ+Л – сумма фульвокислот, легкогидролизуемых и трудногидролизуемых соединений и лигнина*

Исследования ГК с применением гель-проникающей хроматографии на сефадексе обеспечивает их разделение по молекулярным массам [7]. Методом гель-хроматографии получены результаты, свидетельствующие о механохимических преобразованиях компонентов торфов (рис. 1 и 2). Этот факт отражается также на процессе набухания и растворения механоактивированных ГК в щелочном растворе, которые значительно сокращаются по времени. Для ГК более показательным и характерным свойством является характер молекулярно-массового распределения частиц, чем средние значения молекулярных масс или число фракций. Наиболее отчетливое фракционирование по молекулярной массе достигается при фильтрации растворов ГК через сефадекс G-75.

По кривым элюирования ГК характеризуются полимодальным распределением молекул по размерам (рис. 1 и 2). В ГК исходных торфов преобладающей является высокомолекулярная фракция. После МА верхового торфа снижается оптическая плотность, что свидетельствует об уменьшении количества сопряженных структур, при этом возрастает полидисперсность. На кривых элюирования ГК, выделенных из верхового торфа после МА с

ферментом, преобладает один пик, смещенный в область более низких молекулярных масс (рис. 1).

Для ГК низинного торфа (рис. 2) молекулярно-массовое распределение характеризуется одним пиком. Диспергирование и обработка с ферментом снижают оптическую плотность и молекулярную массу фракций ГК.

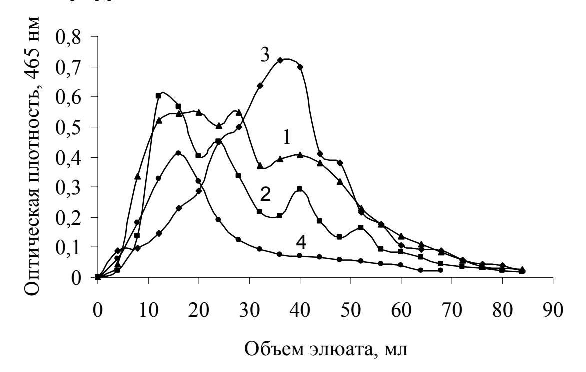


Рис. 1. *Кривые элюирования ГК верхового торфа: 1) исходный, 2) обработанный без добавок, 3) обработанный с ферментом, 4) обработанный со щелочью*

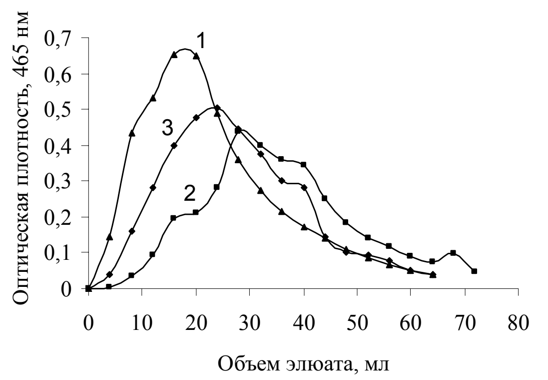


Рис. 2. *Кривые элюирования ГК низинного торфа: 1) исходный, 2) обработанный без добавок, 3) обработанный с ферментом*

По данным ^{13}C ЯМР-спектроскопии, в соответствии с детальной расшифровкой в спектрах ГК отмечено отчетливое проявление алифатических и ароматических углеродных атомов, связанных с кислородом и представляющих разнообразные функциональные группы – гидроксильные, карбоксильные, фенольные, спиртовые, углеводные. В табл. 2 представлены расчеты структурных параметров ГК, свидетельствующие об изменениях их фрагментного состава после МА торфов. Для обоих типов механоактивированных торфов ГК отмечено снижение доли алкильных заместителей и повышение количества кислородсодержащих фрагментов $C_{алк}O$. В зависимости от условий обработки торфов изменился состав кислородсодержащих групп. В образцах верхового торфа повысилось количество углеводных фрагментов, что может быть связано с разрывом гликозидных связей. Практически на одном уровне поддерживается содержание в ГК метоксильных групп. После МА с реагентами в составе ГК торфов незначительно снизилась доля $C_{аром}$. Степень ароматичности ГК, полученных при обработке торфа в различных условиях, практически не менялась. Повышение общего содержания кислородсодержащих групп в составе препаратов после механической обработки показывает существенную роль процессов окисления кислородом воздуха в процессах механохимической активации.

Таблица 2. *Фрагментный состав ГК механоактивированных торфов (по данным ^{13}C ЯМР-спектроскопии)*

Условия обработки	Содержание атомов углерода в структурных фрагментах, отн. %						
	C=O 220...160 мд	$C_{ар}O$ 160...140 мд	$C_{ар}C,H$ 140...113 мд	$C_{алк}O$ 106...93 мд	$C\alpha,\beta$-O-4 93...66 мд	$C_{алк}O$, CH_3O 66...54 мд	$C_{алк}$ 54...0 мд
Верховой торф							
Исходный торф	12,1	2,3	18,5	6,5	14,1	11,4	35,1
Без добавок	12,9	3,7	16,1	6,1	20,8	12,9	27,5
0,5 % ЦВ	11,0	2,1	16,9	11,0	17,4	12,0	29,6
3 % NaOH	8,9	2,2	19,0	6,4	18,8	12,2	32,5
Низинный торф							
Исходный торф	11,0	4,5	30,8	3,1	5,5	7,7	37,4
Без добавок	13,2	5,6	30,1	4,9	5,0	12,1	29,1
0,5 % ЦВ	13,7	4,8	31,6	5,3	4,5	12,8	27,3
3 % NaOH	10,5	5,8	29,5	5,0	5,5	8,5	35,2

Поскольку ГК имеют сложный химический состав, их структурные фрагменты можно условно разделить на гидрофильные (кислородсодержащие фрагменты) и гидрофобные (ароматическая и углеводородная составляющие). Соотношение гидрофильных и гидрофобных компонентов обусловливает растворимость ГК, пространственную организацию и разнообразие функциональных свойств [8, 12].

По результатам исследования фрагментного состава ГК рассчитано соотношение содержания гидрофильных фрагментов к гидрофобным (табл. 3). В ГК необработанных торфов оно ниже 1, а в ГК более преобразованного низинного торфа в 2 раза меньше, чем в ГК верхового торфа. Образующиеся при МА торфов ГК характеризуются повышенной долей гидрофильных фрагментов, что ведет к увеличению растворимости гуминовых препаратов.

Таблица 3. *Влияние условий МА торфов на изменение структурных параметров ГК*

Условия обработки	Отношение содержания в ГК гидрофильных фрагментов к гидрофобным	
	Верховой торф	Низинный торф
Исходный торф	0,86	0,47
Без добавок	1,35	0,65
0,5 % ЦВ	1,15	0,70
3 % NaOH	0,94	1,15

Парамагнитные свойства ГК отличаются высокой устойчивостью, что обусловлено синергетическим эффектом взаимодействия ароматических систем полисопряжения и водородных связей функциональных групп [13]. В ЭПР спектрах полученных ГК обнаружены узкие симметричные синглет-

ные линии при *g*-факторе 2, характерном для неспаренного электрона свободных радикалов. Известно, что значения концентрации парамагнитных центров (ПМЦ) и свойства свободных радикалов ГК изменяются в зависимости от условий их выделения [14]. В щелочной среде генерируются и стабилизируются семихиноновые радикалы, а в кислой среде природа парамагнетизма носит ассоциативный характер. МА и обработка с ферментом приводят к падению концентрации ПМЦ (табл. 4), что может быть связано с разрушением ассоциатов ГК и устранением водородных связей между системами полисопряжения и функциональными группами. Обработка со щелочью, напротив, привела к увеличению количества ПМЦ.

Таблица 4. *Концентрация парамагнитных центров в ГК механоактивированных торфов*

Условия обработки	Концентрация ПМЦ, сп/г, 10^{18}
Верховой торф	
Исходный торф	0,87
Без добавок	0,65
0,5 % ЦВ	0,72
3 % NaOH	1,19
Низинный торф	
Исходный торф	0,97
Без добавок	0,29
0,5 % ЦВ	0,20
3 % NaOH	1,40

Гуминовые препараты из торфов, углей, сапропелей обладают биологической активностью. Проводятся попытки связать их биологическую активность с реакционной способностью по отношению к свободным радикалам, со структурными особенностями препаратов, например, соотношением в молекуле ГК гидрофильных и гидрофобных составляющих [8, 12]. Однако полученные разными авторами результаты не всегда согласуются между собой из-за неоднородности химического состава выделенных препаратов, который зависит от исходного сырья, способа получения, очистки препаратов и метода оценки их биологической активности. В данной работе изучалось влияние ГК торфов на процесс электровосстановления кислорода с целью оценки их реакционной способности [9]. Ингибирующая способность препарата в данной реакции определяет важное практическое свойство – антиоксидантную активность. Биостимулирующая активность ростовых препаратов зависит от их инициирования окислительных процессов.

Особенности антиоксидантного действия в зависимости от длительности периода окисления определяются химической природой вещества. Антиоксиданты гуминовой природы обладают способностью к инверсии антиоксидантной активности в прооксидантную.

В табл. 5 показано влияние условий МА торфов на реакционную способность ГК. Коэффициент $K_{восст.}$, характеризующий прооксидантные свойства всех исследованных образцов, определен в начальной стадии процесса окисления по зависимостям относительного изменения плотности предельного тока электровосстановления кислорода от концентрации вещества в объеме раствора. Фракции ГК проявляют независимо от условий обработки только инициирующие свойства по отношению к окислительным процессам.

Таблица 5. *Прооксидантная активность ГК механоактивированных торфов*

Условия обработки	$K_{восст.}$, мкл/г
Верховой торф	
Исходный торф	–5,1
Без добавок	–40,0
0,5 % ЦВ	–9,7
3 % NaOH	–5,0
Низинный торф	
Исходный торф	–2,5
Без добавок	–15,0
0,5 % ЦВ	–7,6
3 % NaOH	–7,7

Во всех случаях, за исключением щелочного гидролиза верхового торфа, отмечен рост коэффициентов активности ГК. Максимальной прооксидантной активностью характеризуются ГК торфов, обработанных без добавок.

Выводы

Механохимическая активация торфов повышает эффективность экстракции гуминовых кислот, характеризующихся повышенной прооксидантной активностью. При механоактивации с реагентами происходит структурная перестройка, приводящая к изменению отдельных фрагментов макромолекул и количества функциональных групп в составе гуминовых кислот, увеличивается количество гидрофильных фрагментов в их составе, что является причиной повышения растворимости гуминовых препаратов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Раковский В.Е., Пигулевская Л.В. Химия и генезис торфа. – М.: Недра, 1978. – 231 с.
2. Наумова Г.В., Райцина Г.И., Косоногова Л.В. и др. Гуминовые препараты торфа и их эффективность при сельскохозяйственном использовании // Химия твердого топлива. – 1991. – № 1. – С. 95–100.
3. Юдина Н.В., Зверева А.В., Ломовский О.И. Механохимические превращения в торфах различных типов // Химия твердого топлива. – 2002. – № 5. – С. 3–10.
4. Ivanov A.A., Yudina N.V., Lomovsky O.I. Mechanochemical transformations of humic substances of peat // Mechanochemical Synthesis and Sintering: Intern. Conf. – Russia, Novosibirsk, 2004. – P. 202.
5. Иванов А.А. Химические и структурные превращения органических компонентов торфов после механоактивации: Автореф. дис. ... канд. хим. наук. – Томск, 2005. – 23 с.
6. ГОСТ 28245.2-89. Методы определения ботанического состава и степени разложения. Введен 01.07.90. – М.: Изд-во стандартов, 1989.

7. Березкин В.Г. Хроматографический анализ окружающей среды. – М.: Химия, 1979. – 608 с.
8. Калабин Г.А., Каницкая Л.В., Кушнарев Д.Ф. Количественная спектроскопия ЯМР природного органического сырья и продуктов его переработки. – М.: Химия, 2000. – 407 с.
9. Иванов А.А., Юдина Н.В., Савельева А.В., Короткова Е.И., Ломовский О.И. Каталитические свойства механоактивированных гуминовых препаратов в процессе электровосстановления кислорода // Журнал прикладной химии. – 2004. – Т. 77. – Вып. 1. – С. 48–53.
10. Лиштван И.И., Базин Е.Т., Гамаюнов Н.И., Терентьев А.А. Физика и химия торфа. – М.: Недра, 1989. – 304 с.
11. Кашинская Т.Я., Шевченко Н.В., Цынкалова Л.Ю. и др. Механохимические превращения гуминовых кислот торфа // Весці АН Беларусі. Сер. хім. навук. – 2001. – № 1. – С. 89–92.
12. Федорова Т.Е. Количественная спектроскопия ЯМР ^{13}C, ^{17}O и физиологическая активность гуминовых кислот: Автореф. дис. ... канд. хим. наук. – Иркутск, 2000. – 23 с.
13. Дударчук В.М., Прохоров С.Г., Смычник Т.П. и др. О роли водородных связей в формировании парамагнетизма гуминовых кислот // Коллоидный журнал. – 1997. -Т. 59. – № 3. – С. 313–316.
14. Стригуцкий В.П., Бамбалов Н.Н., Марыганова В.В., Тычинская Л.Ю. Изучение систем полисопряжения гуминовых кислот торфа по генетическим рядам гумификации // Гуминовые вещества в биосфере: Тез. докл. II Междунар. конф. – Санкт-Петербург, 2003. – С. 53–54.

УДК 541.128:66.097